

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Дубовой Татьяны Клеониковны на диссертационную работу Ломановской Татьяны Александровны на тему «Компьютерный морфоденситометрический анализ эритроцитов при гипервитаминозе А», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология.

Актуальность темы диссертационного исследования

Темой исследования, проведенного Т.А. Ломановской, является комплексный анализ изменений морфоденситометрических параметров эритроцитов, возникающих при введении ретинола пальмитата в организм экспериментальных животных. Ретинол и его аналоги характеризуются широким спектром биологических свойств и оказывают влияние на развитие и функционирование многих органов и систем. Эти вещества находят широкое применение в медицине в качестве препаратов для лечения кожных, онкологических, инфекционно-воспалительных и прочих заболеваний, однако их использование сопряжено с риском развития гипервитаминоза, приводящего к поражению печени и костной ткани, расстройству пищеварения, кровоизлияниям и другим проявлениям острой или хронической токсичности.

Актуальность темы, избранной автором диссертации, обусловлена существующей потребностью в разработке прогностических критериев передозировки ретиноидов, которые были бы применимы для диагностики доклинической стадии гипервитаминоза А. В качестве таких критериев Т.А. Ломановская предлагает использовать изменения морфологических характеристик эритроцитов, обосновывая это тем, что биологически активные формы витамина А являются мембранотропными соединениями, способными влиять на вязкоупругие свойства и текучесть плазмолеммы эритроцитов и, как следствие, на их способность к обратимой деформации.

Необходимо отметить, что до настоящего времени влияние ретинола и его аналогов на состояние эритроцитов изучено недостаточно. В литературе имеется лишь небольшое число сообщений о морфологических изменениях эритроцитов под действием ретинола, в которых практически отсутствуют результаты их детального морфометрического анализа. Не описана динамика развития таких изменений при длительном поступлении в организм витамина А или его производных. Не рассматривалась возможность использовать показатели морфологической целостности эритроцитов при передозировке ретинола в качестве прогностических критериев развития гипервитаминоза А. Работа Т.А. Ломановской восполняет пробел в имеющихся по этим вопросам знаниях, в связи с чем актуальность темы диссертации, а также научно-практическая значимость работы не вызывают сомнения.

Степень обоснованности научных положений выводов и рекомендаций

Достоверность результатов диссертационной работы подтверждается достаточным количеством наблюдений (число животных, число анализируемых клеток), рассчитанным при планировании эксперимента, а также использованием методов исследования, которые соответствуют поставленным в работе целям и задачам. Сформулированные в диссертации научные положения, выводы и рекомендации обоснованы фактическими данными, корректно проанализированными с использованием адекватных методов статистического анализа и представленными в таблицах и рисунках.

Новизна исследования и полученных результатов

В работе получен ряд новых данных, а именно:

- с помощью компьютерного морфоденситометрического (МДМ) анализа эритроцитов получены данные о характере и динамике их морфологических изменений в условиях гипервитаминоза А, смоделированного у крыс передозировкой ретинола пальмитата (РП); показано, что в этих условиях снижается оптическая плотность дискоцитов, меняются МДМ параметры их профиля, что сопровождается сдвигом соотношения истинных дискоцитов и дискосфероцитов в сторону последних и последующим увеличением числа

атипичных форм эритроцитов;

– на основе сопоставления динамики развития гипервитаминоза А с динамикой морфологических изменений дискоцитов выявлены МДМ параметры их профиля, меняющиеся до появления признаков передозировки РП;

– дана сравнительная оценка информативности изменений МДМ параметров профиля дискоцитов крыс при использовании избыточных доз РП; установлено, что на доклинической стадии развития гипервитаминоза А прогностическими критериями могут служить увеличение кривизны нисходящей части тора, снижение площади поверхности и показателя контрастности дискоцитов;

– изучен характер изменений эритроцитов при ежедневном потреблении крысами масляной основы (МО), используемой для приготовления растворов РП; установлено, что в этих условиях возрастает оптическая плотность цитоплазмы дискоцитов, а также увеличивается их площадь поверхности и ее соотношение с объемом;

– предложен критерий разделения дискоцитов крыс на субпопуляции истинных дискоцитов и дискосфероцитов и охарактеризованы различия МДМ параметров в этих субпопуляциях.

Научно-практическая значимость полученных результатов

Обоснована эффективность использования компьютерной морфоденситометрии для оценки неспецифических морфологических изменений эритроцитов при гипервитаминозе А. Показано, что на основе анализа МДМ параметров дискоцитов возможен прогноз возникновения и оценка степени тяжести гипервитаминоза А. В качестве прогностических критериев передозировки РП предложен перечень информативных признаков морфологических изменений эритроцитов. Охарактеризованы морфологические изменения эритроцитов крыс при потреблении ими масляной основы раствора ретинола пальмитата. Тем самым и обоснована необходимость использовать при изучении эффектов биологически активных

форм витамина А в качестве группы сравнения животных, получающих МО, применяемую для растворения субстанции ретинола или его эфиров.

Выявлены различия морфоденситометрических параметров профиля в субпопуляциях дискоцитов интактных животных. Установлено, что соотношение истинные дискоциты/дискосфероциты в периферической крови меняется при передозировке РП. Предложено при оценке состояния эритрона в экспериментальных и клинических исследованиях учитывать в качестве критериев не только количество типичных и атипичных форм эритроцитов, но также оценивать объем и соотношение субпопуляций дискоцитов.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Результаты диссертационной работы, посвященной компьютерному морфоденситометрическому анализу эритроцитов при гипервитаминозе А, носят прикладной характер и могут быть использованы в экспериментальных и клинических исследованиях состояний, обусловленных передозировкой ретинола или его производных, в том числе с целью их прогнозирования и ранней диагностики.

Оформление и содержание диссертационной работы

Диссертационная работа Т.А. Ломановской изложена на 132 страницах машинописного текста, содержит 24 таблицы, 41 рисунок и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 317 источников, в том числе 49 отечественных и 268 зарубежных.

Во введении автор обосновывает актуальность темы диссертации, приводит сведения о степени ее разработанности, формулирует цель и задачи исследования, а также положения, выносимые на защиту. В этом разделе также описана методология исследования, раскрыты его научная новизна и научно-практическая значимость, приведена информация об апробации и внедрении результатов исследования, о соответствии диссертации паспорту

специальности, личном вкладе автора в выполнение работы и публикациях по ее материалам.

Обзор литературы изложен на 28 страницах. Автор детально рассматривает особенности строения мембраны эритроцитов, их способность к обратимой деформации, описывает возможные патологические формы эритроцитов, приводит сведения о влиянии различных химических веществ на эритроцитарную мембрану. В главе дана характеристика ретиноидов: рассмотрены их физиологическое значение, метаболизм, проявления острой и хронической токсичности, влияние на систему крови и, в частности, на морфологию эритроцитов. Обзор построен логично, достаточно полно отражает современные представления по рассматриваемым в нем вопросам, текст изложен на хорошем литературном языке.

В главе «Материалы и методы» приведены сведения об использованных экспериментальных животных и их распределении по сериям экспериментов, описаны экспериментальная модель передозировки витамина А, методы приготовления мазков крови и подсчета в них различных форм эритроцитов, а также гистологического исследования образцов печени. Подробно изложены методика компьютерной морфоденситометрии дискоцитов и статистические методы, использованные при планировании объема выборок и для оценки значимости различий и информативности изменений анализируемых параметров. Примененные в диссертации методы адекватны поставленным задачам, подробность и корректность их описания свидетельствуют о личном участии автора в проведении экспериментов и анализе результатов.

Глава «Результаты собственных исследований» состоит из пяти разделов. В первом разделе изложены результаты анализа морфоденситометрических параметров эритроцитов у интактных крыс и показана неоднородность популяции дискоцитов по ряду параметров, что позволяет условно разделить их на две субпопуляции – истинные дискоциты и дискосфероциты. Соотношение дискоцитов в субпопуляциях, являющееся,

по мнению автора, одним из показателей состояния эритрона, использовано в дальнейшем при оценке реакции эритроцитов на передозировку ретинола пальмитата.

Следующий раздел посвящен изучению морфологии эритроцитов крыс, получавших масляную основу раствора ретинола пальмитата. Показано, что введение масляной основы само по себе изменяет параметры профиля дискоцитов и в отдаленные сроки ведет к увеличению доли дискосфероцитов в периферической крови. Тем самым, в работе обосновывается выбор группы сравнения в основной экспериментальной части исследования.

В третьем разделе главы описаны результаты моделирования гипервитаминоза А у крыс путем ежедневного введения масляного раствора ретинола пальмитата в различных дозах. Дана оценка зависимости состояния животных от дозы и длительности потребления препарата, проанализирована морфология эритроцитов у крыс, получавших различные дозы ретинола, в сравнении с животными, получавшими масляную основу, и интактными животными.

В четвертом разделе главы приведены результаты сопоставления динамики реактивных изменений эритроцитов на передозировку ретинола пальмитата с динамикой развития гипервитаминоза А. Показано, что изменение анализируемых МДМ параметров эритроцитов либо совпадают по времени с появлением симптомов гипервитаминоза А, либо предшествуют ему. Автором установлены параметры профиля дискоцитов, значимо изменяющиеся еще до появления видимых признаков передозировки ретинола и поэтому предположительно пригодные в качестве прогностических критериев гипервитаминоза А.

Последний раздел главы посвящен анализу информативности изменений таких параметров, по результатам которого из изначально большого их числа были отобраны три наиболее диагностически значимых. При этом автор справедливо подчеркивает, что высокая информативность этих параметров в условиях проведенного эксперимента не означает универсальности их

диагностической значимости в иных условиях. В работе дается практическая рекомендация о целесообразности выделять из признаков, имеющих статистически значимые различия с контролем, наиболее информативные и диагностически значимые, что позволяет сокращать количество МДМ параметров, анализируемых в повторяющихся условиях эксперимента.

В главе «Обсуждение полученных результатов» и в общем заключении к диссертации Т.А. Ломановская обобщает полученные экспериментальные данные, анализирует их сопоставляя с имеющимися в литературе сведениями, рассматривает возможные механизмы возникновения наблюдаемых изменений морфологии эритроцитов. Работа содержит семь выводов, которые закономерно вытекают из результатов решения поставленных задач. Характеризуя диссертацию в целом, следует отметить, что она выполнена на высоком методическом уровне, написана грамотным научным языком. Сформулированные автором обобщения, выводы и заключение по работе в целом в полной мере обоснованы полученными экспериментальными данными.

Автореферат соответствует материалам диссертации и полностью отражает ее содержание.

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

По результатам исследования автором опубликовано 16 печатных работ: 3 научные статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук (из них 1 статья в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus); 3 статьи в иных научных изданиях, 10 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

Принципиальных замечаний по рецензируемой работе нет.

Заключение

Диссертация Ломановской Татьяны Александровны на тему «Компьютерный морфоденситометрический анализ эритроцитов при гипервитаминозе А», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология, является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой решена важная научная задача – исследованы характер и динамика морфологических изменений эритроцитов при использовании различных доз ретинола пальмитата и дана оценка диагностической значимости изменений их морфоденситометрических параметров для прогноза возникновения гипервитаминоза А, что имеет существенное значение для теоретической и практической медицины.

Диссертация соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом от 31.01.2020 г. № 0094/Р, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология.

Официальный оппонент – доктор медицинских наук
(по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология
(14.00.23)) профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии
ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова

Дубовая Татьяна Клеониковна

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
"Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова"
Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, дом 1
Телефон: +7 (495) 434-22-66
E-mail: rsmu@rsmu.ru

